

## MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE NÚCULAS DE MARRUBIUM (LAMIACEAE) EN EL SUROESTE DE ESPAÑA

M<sup>a</sup> A. MARTÍN MOSQUERO, R. JUAN Y J. PASTOR

Dpto. de Biología Vegetal y Ecología. Aptdo. 1045, 41080 Sevilla

(Recibido el 3 de Abril de 2007)

**Resumen.** Se estudia la micromorfología y anatomía de núculas de *Marrubium vulgare*, en el suroeste de España, tanto al microscopio óptico como al microscopio electrónico de barrido. Anatómicamente su epicarpo se caracteriza por los engrosamientos secundarios de las paredes celulares y por los gránulos intensamente teñidos en la pared tangencial interna. Finalmente se indica el sistema de dispersión.

**Summary.** The aim purpose is to study the morphology and anatomy of nutlets of *Marrubium vulgare*, from SW Spain, using light and scanning electron microscope. Anatomically its epicarp by the secondary thickenings of the wall cells and by very dyed granules in the inner tangential wall, is remarkable. Lastly, the dispersal system of nutlets is indicated.

### INTRODUCCIÓN

El género *Marrubium*, incluido en la subfamilia *Lamioideae* (BRIQUET, 1895 - 1897; ERDTMAN, 1945; WUNDERLICH, 1967; CANTINO & al., 1992; TAKHTAJAN, 1997; NAVARRO & al., 2002; HARLEY & al., 2004), se distribuye por la Macaronésia, región Mediterránea, Europa y N de África hasta Paquistán (WILLIS, 1966; HARLEY & al., 2004), siendo *M. vulgare* la especie de distribución más amplia. En el suroeste de España (UBERA, 1987), esta especie se presenta como planta nitrófila muy común en todo el territorio y muy apreciada medicinalmente (FONT QUER, 1980; GONZÁLEZ-TEJERO & al., 1992; RIVERA NÚÑEZ & OBÓN DE CASTRO, 1992).

Son hierbas perennes, blanco-lanadas. Con tallos abundantemente ramificados y flores subsentadas en espiga de verticilastros densos. Cáliz tubuloso, actinomorfo, con 10 dientes espinosos y ganchudos y garganta densamente pelosa. Corola bilabiada, blanca, más larga que el cáliz, con labio superior recto, profundamente bilobado y lóbulos lineares y paralelos; labio inferior trilobado. Androceo didínamo, con cuatro estambres incluidos en el tubo de la corola. Estilo con ramas ligeramente desiguales.

No se conocen trabajos específicos sobre *Marrubium*, aunque se trata en trabajos más generales como el estudio cromosómico de HARLEY & HEYWOOD

(1992) en *Lamiaceae* de América tropical, o el de OWENS & UBERA (1992) sobre la biología reproductiva de la familia.

Respecto a las núcúlas, hay que destacar el trabajo de WAGNER (1914) sobre anatomía de las mismas en especies de la flora francesa, el de FABRE & NICOLI (1965) que entre otras especies de *Lamiaceae* estudia la morfología de las núcúlas de *M. vulgare* y el de WOJCIECHOWSKA (1966) sobre morfología y anatomía de algunas especies del género de Europa meridional.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El material estudiado fue fijado en FAA durante un mínimo de 24 horas, y a continuación se pasó a etanol al 70 % que actuó como líquido conservante hasta su posterior análisis. Los testigos se encuentran en el Herbario de la Universidad de Sevilla (SEV).

El estudio morfológico se realizó con núcúlas maduras, fijadas y sometidas a punto crítico. Este material se montó en portas utilizando adhesivo de doble cara. Seguidamente se metalizó con oro-paladio y posteriormente se examinó con un microscopio electrónico de barrido (M.E.B.) Philips LX-30. Los datos sobre longitud y anchura se basan en un muestreo de 180 núcúlas.

En el estudio anatómico se utilizaron núcúlas madura, fijadas y deshidratadas mediante la serie de alcohol butílico terciario (JOHANSEN, 1940). Posteriormente se incluyeron en parafina y se cortaron a 9 – 12 µm de grosor. Una vez montadas las secciones, se tiñeron con safranina alcohólica al 1 % y fast-green alcohólico al 0.1 %, y se montaron de modo permanente para su posterior observación al microscopio óptico (M.O.) El dibujo del corte anatómico se ha realizado con ayuda de una cámara clara.

Para la terminología se ha seguido principalmente a FONT QUER (1993) y STEARN (1992).

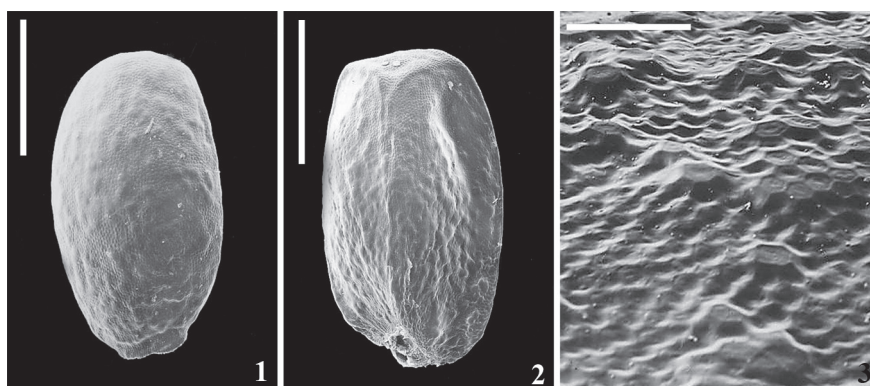
### *Material estudiado*

**Cádiz.** Algodonales, cunetas, 21.VI.1996, *Martín Mosquero* y *Ocaña* (SEV 153446). **Córdoba.** Cabra, subida a la Ermita de la Virgen de la Sierra, 25.VI.1996, *Martín Mosquero* y *Ocaña* (SEV 153495). Almodóvar del Río, alrededores del Castillo, 28.VI.1996, *Martín Mosquero* (SEV 153547). **Huelva.** Entre Ayamonte y Villablanca, alrededores del Río Pedraza, 27.VI.1996, *Juan* y *Martín Mosquero* (SEV 153528). Entre Candón y Niebla, cunetas, 27.VI.1996, *Juan* y *Martín Mosquero* (SEV 153536). **Sevilla.** Mairena del Aljarafe, 21.V.1996, *Juan* y *Martín Mosquero* (SEV 153358).

## RESULTADOS

### **Marrubium vulgare L.**

*Núculas* de 1,4 – 2,3 x 0,7 – 1,3 mm, leñosas. De contorno oblongo a elíptico, trígono. Ápice truncado y base subtruncada y asimétrica. Hilo oscuro, localizado en la base de la cara ventral, de contorno subtriangular, prolongado en una quilla longitudinal que ocupa toda la cara ventral, en el que se observan depósitos esféricos de ceras. De color negro; brillante. Asimétricas. Superficie foveolada con tubérculos planos poco prominentes y, a veces continuos, formada por dos tipos de células poligonales con la pared tangencial externa lisa; las que forman los tubérculos con paredes radiales no visibles y las restantes con paredes radiales superficiales. Ocasionalmente, en la región apical ventral se observan pequeñas glándulas, normalmente colapsadas (Figs. 1-3).



Figs. 1-3. *Marrubium vulgare*. 1, contorno dorsal; 2, contorno ventral; 3, detalle de la superficie. Escalas: 1 y 2 (1 mm); 3 (100  $\mu$ m).

*Pericarpo* de 58 - 103  $\mu$ m de grosor. *Epicarpo* de 25 - 48  $\mu$ m, formado por una capa de células alargadas radialmente, de paredes delgadas, con gránulos sobre la pared tangencial interna, algunas con engrosamientos secundarios reticulados irregulares, normalmente dispuestos en 3 filas verticales; cutícula de 2-5  $\mu$ m de grosor. *Mesocarpo* de 9 - 15  $\mu$ m, formado por 2 - 3 capas de células irregulares, intensamente teñidas, de paredes delgadas. Capa en empalizada de 17-23  $\mu$ m, constituida por esclereidas más o menos isodiamétricas de paredes engrosadas, excepto la tangencial externa, con un lumen irregular, ensanchado hacia el ápice donde suele aparecer un cristal de 6,5 – 12,5  $\mu$ m de diámetro. *Endocarpo* de 5-12  $\mu$ m de grosor, constituido por una capa de células rectangulares, intensamente teñidas y de paredes delgadas (Fig. 4).

*Testa* de 2,5 – 3,5  $\mu\text{m}$  de grosor, formada por una capa de células rectangulares, intensamente teñidas y de paredes delgadas (Fig. 4).

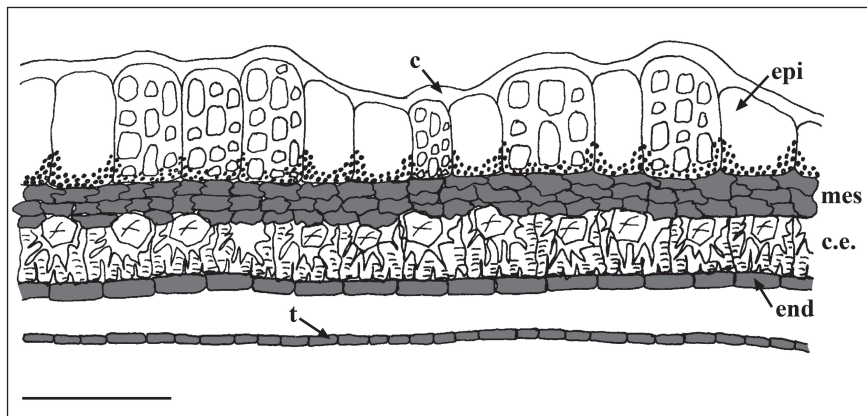


Fig. 4. Esquema de la estructura anatómica del pericarpo de *Marrubium vulgare*. c: cutícula; epi: epidermis; mes: mesocarpo; c.e.: capa en empalizada; end: endocarpo; t: testa. Escala: 50  $\mu\text{m}$ .

## DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la organización morfológica y anatómica de las núculas de *M. vulgare* y la observada por WAGNER (1914) y WOJCIECHOWSKA (1966) en otras especies del género como *M. peregrinum*, *M. astracanicum* o *M. cataeriaefolium*, se ve como determinados caracteres permiten su diferenciación. Por un lado, la presencia de abundantes pelos eglandulares y la superficie rugosa en *M. peregrinum* (WOJCIECHOWSKA, 1966) permiten separarla de las restantes especies. Por otro lado, a pesar de que desde un punto de vista morfológico *M. vulgare*, *M. astracanicum* y *M. cataeriaefolium* son similares, algunos caracteres anatómicos, fundamentalmente del epicarpo facilitan su identificación. Así de acuerdo con WAGNER (1914), *M. vulgare* es el taxón que muestra las células con engrosamientos secundarios de menor tamaño tanto en anchura como en longitud. En cuanto a las otras dos especies, sólo *M. cataeriaefolium* presenta cristales de oxalato cálcico en las células del epicarpo que carecen de engrosamientos secundarios (WAGNER, 1914).

Con respecto a *M. vulgare*, que es el taxón que se encuentra en el área de estudio, teniendo en cuenta las observaciones de WAGNER (1914), FABRE & NICOLI (1965) y WOJCIECHOWSKA (1966) acerca de la morfología y la anatomía de sus núculas, se observa cierta variabilidad interpoblacional respecto a determinados caracteres, que podría estar relacionada con la procedencia del

material. Así por ejemplo, mientras que en el material procedente de Francia (FABRE & NICOLI, 1965) el tamaño de las núculas alcanza los 3 mm y tienen el ápice y el hilo redondeados, en el material del área de estudio éstas no superan los 2,3 mm de longitud, el ápice es truncado y el hilo es de contorno subtriangular. En cuanto a la ausencia de glándulas en el material examinado por WAGNER (1914) y WOJCIECHOWSKA (1966) podría ser debido a su reducido tamaño y a la necesidad de utilizar el M.E.B. para su observación.

Anatómicamente, los caracteres más variables parecen ser el tamaño y el número de los engrosamientos secundarios presentes en las células del epicarpo y la presencia de gránulos intensamente teñidos sobre la pared tangencial interna de dichas células. Así, generalmente en el material estudiado se observan tres filas verticales de perforaciones de tamaño medio, frente a las numerosas perforaciones de tamaño pequeño observadas por WAGNER (1914) en material francés y por WOJCIECHOWSKA (1966) en material de Europa meridional. En cuanto a los gránulos, coincidiendo con los resultados obtenidos, sólo WOJCIECHOWSKA (1966) destaca su presencia sobre la pared tangencial interna de las células del epicarpo.

Con respecto al resto del pericarpo, los resultados obtenidos coinciden con los observados por WAGNER (1914) y WOJCIECHOWSKA (1966), si bien, únicamente para WAGNER (1914), el grosor del endocarpo es similar al que muestra la capa en empalizada.

La proximidad entre el género *Marrubium* y otros como *Lamium* ha sido puesta de manifiesto, con anterioridad, por algunos autores como ERDTMAN (1945) y WUNDERLICH (1967) basándose en los caracteres polínicos y en el desarrollo y morfología de las semillas de ambos géneros. Más recientemente, WINK y KAUFMAN (1996), tras un análisis de secuencias de ribonucleótidos en *Lamiaceae*, en el que los resultados obtenidos se ajustan a la clasificación de ERDTMAN (1945), confirman la proximidad filogenética entre los géneros *Scutellaria*, *Stachys*, *Marrubium* y *Lamium*, todos incluidos en la subfamilia *Lamioideae*, especialmente entre los dos últimos que se incluyen como únicos representantes en la tribu *Lamieae*. No obstante, aunque a nivel de las núculas hay algunos caracteres comunes en los géneros pertenecientes a esta subfamilia, como los engrosamientos secundarios en las células del epicarpo o esclereidas con lumen ensanchado hacia el ápice (WAGNER, 1914; WOJCIECHOWSKA, 1966; RYDING, 1993, 1994, 1995), la mayor similitud se observa entre *Marrubium*, *Ballota* y *Galeopsis*, sobre todo a nivel del epicarpo ya que el resto de capas del pericarpo presentan poca variabilidad en todos estos géneros.

Por último, la dispersión en *Marrubium* parece ser balista-zoócora (BOUMAN y MEEUSE, 1992), ya que el cáliz tras engancharse con sus dientes ganchudos y espinosos al pelaje de los animales que rozan la planta, en vez de desprenderse vuelve a su posición original liberando las núculas en este movimiento.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a Dña. A. Fernández (S.M.E.) la preparación de las muestras en punto crítico, y al Dpto. de Biología del Desarrollo de la Facultad de Medicina de Sevilla las facilidades prestadas para el uso del microtomo de parafina y la cámara de vacío.

## BIBLIOGRAFÍA

- BOUMAN, F. & A. D. J. MEEUSE (1992). Dispersal in Labiatae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.). *Advances in Labiatae Science*: 193 - 202. Royal Botanic Gardens. Kew.
- BRIQUET, J. (1895 - 1897). Labiatae. In A. ENGLER & K. PRANTL (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. **4(3a)**: 183 - 375. W. Engelmann. Leipzig.
- CANTINO, P. D., R. M. HARLEY & S. J. WAGSTAFF (1992). Genera of Labiatae: status and classification. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.). *Advances in Labiatae Science*: 511 - 522. Royal Botanic Gardens. Kew.
- ERDTMAN, G. (1945). Pollen morphology and plant taxonomy, IV, Labiatae, Verbenaceae and Avicenniaceae. *Svensk Bot. Tidskr.* **39**: 277 - 285.
- FABRE, G. & R. M. NICOLI (1965). Sur la morphologie des akènes de quelques Labiées de la flore de France. Intérêt systématique de cette étude. *Bull. Soc. Bot. France* **112**: 267 - 271.
- FONT QUER, P. (1980). *Plantas Medicinales (El Dioscórides Renovado)*. 6ª edición. Labor. Barcelona.
- (1993). *Diccionario de Botanica*. Labor. Barcelona.
- GONZÁLEZ-TEJERO, M. R., J. MOLERO-MESA & M. CASARES-PORCEL (1992). The family Labiatae in popular medicine in eastern Andalusia: the province of Granada. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.). *Advances in Labiatae Science*: 489 - 505. Royal Botanic Gardens. Kew.
- HARLEY, R. M. & C. A. HEYWOOD (1992). Chromosome numbers in tropical American Labiatae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.), *Advances in Labiatae Science*, pp. 211 - 246. Royal Botanic Gardens. Kew.
- , S. ATKINS, A. L. BUDANTSEV, P. D. CANTINO, B. J. CONN, R. GRAYER, M. M. HARLEY, R. DE KOK, T. KRESTOVSKAJA, R. MORALES, A. J. PATON, O. RYDING & T. UPSON (2004). Labiatae. In J. W. KADERIT (ed.), K. KUBITZKI (ed. in chief). *The families and genera of vascular plants VII. Flowering plants. Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)*: 167-275. Springer. Berlin.
- JOHANSEN, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. MacGraw-Hill Book Company. New York.
- NAVARRO, T., J. EL OUALIDI, B. CABEZUDO & M. FENNANE (2002). Labiatae checklist for Andalucía (Southern Spain) and the Rif (Northern Morocco). *Acta Bot. Malacitana* **27**: 159-187.
- OWENS, S. J. & J. L. UBERA (1992). Breeding systems in Labiatae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.). *Advances in Labiatae Science*: 257 - 280. Royal Botanic Gardens. Kew.
- RIVERA NUÑEZ, D. & C. OBÓN DE CASTRO (1992). The ethnobotany of old world Labiatae. In R. M. HARLEY & T. REYNOLDS (eds.). *Advances in Labiatae Science*: 455 - 473. Royal Botanic Gardens. Kew.

- RYDING, O. (1993). Pericarp structure of Leucas and related genera (Lamiaceae subfam. Lamioideae). *Nordic J. Bot.* **13**: 637 - 646.
- (1994). Pericarp structure in the subtribe Melittidinae (Lamiaceae-Lamioideae) and its systematic implications. *Bot. Jahrb. Syst.* **115**: 547 - 555.
- (1995). Pericarp structure and phylogeny of the Lamiaceae-Verbenaceae-complex. *Pl. Syst. Evol.* **198**: 101 - 141.
- STEARN, W. T. (1992). *Botanical Latin*. David & Charles Book. Newton Abbott. London.
- TAKHTAJAN, A. (1997). *Diversity and classification of flowering plants*. Columbia University Press. New York.
- UBERA, J. L. (1987). Marrubium. In B. VALDÉS & al. (eds.). *Flora Vascular de Andalucía Occidental*, vol. **2**. Ketres, Barcelona.
- WAGNER, S. (1914). *Contribution à l'étude anatomique du fruit des Labiées*. Thèse. Université de Paris.
- WILLIS, J. C. (1966). *A dictionary of the flowering plants and Ferns*. Cambridge University Press. Cambridge.
- WINK, M. & M. KAUFMAN (1996). Phylogenetic relationships between some members of the subfamily Lamioideae (Family Labiatae) inferred from nucleotide sequences of the rbcL gene. *Bot. Acta* **109**: 139 - 148.
- WOJCIECHOWSKA, B. (1966). Morphology and anatomy of fruit and seeds in the family Labiatae with particular respect to medicinal species. *Monogr. Bot.* **21**: 3 - 244.
- WUNDERLICH, R. (1967). Ein Vorschlag zu einer Natürlichen Gliederung der Labiaten auf Grund der Pollenkörner, der Samenentwicklung und des reifen Samens. *Österr. Bot. Z.* **114**: 383 - 483.

